FACULTÉ DE MEDECINE DE PARIS

ANNÉE 1969

THÈSE

N° 66

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Jean-Marie HURAUX

Né le 3 Mars 1938 à VERSAILLES - 78

Présentée et soutenue publiquement le

ETUDE DU POUVOIR ONCOGENE EXPERIMENTAL POUR LE HAMSTER NOUVEAU-NÉ DE 32 SOUCHES D'ADENOVIRUS HUMAIN TYPE 7 ISOLÉES EN FRANCE

Président : Monsieur P. TOURNIER (Professeur)

DACTYLO-SORBONNE

8, Rue Casimir-Delavigne

PARIS-VI°

1969

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

-:-

Année 1969 N°

T H E S E

pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

par

Jean-Marie HURAUX

Né le 3 mars 1938 à Versailles - 78

-:-

Présentée et soutenue publiquement
le

-:-

ETUDE DU POUVOIR ONCOGENE EXPERIMENTAL POUR LE HAMSTER NOUVEAU-NE DE 32 SOUCHES D'ADENOVIRUS HUMAIN TYPE 7 ISOLEES EN FRANCE

-:-

Président : Monsieur P. TOURNIER (Professeur)

-:-

DACTYLO-SORBONNE
8, rue Casimir Delavigne
PARIS - 6ème
1969

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. ALAJOUANINE (T), BENARD (H), BERNARD (E), BINET (L), BULLIARD (H), CATHALA (J), CHABROL (E), CHAILLEY-BERT (P), CHEYMOL (J), COSTE (F.), DEBRE (R), DECHAUME (M), GALLIARD (H), GAUDARD d'ALLAINES (F.de), GENNES (L.de), GIROUD (A), HAZARD (R), HEUYER (G), LACOMME (M), LAMY (M), LAROCHE (G), LELONG (M), LEVY (Mlle J), LEVY-SOLAL (E), LIAN (C), MADURO (R), MARCHAL (G), MATHIEU (P), MONOD (R), MOREAU (R), MOULONGUET (P), PASTEUR VALLERY-RADOT, PETIT-DUTAILLIS (D), PIEDELIEVRE (R), QUENU (J), RENARD (G), SENEQUE (J), STROHL (A), TANON (L), TURPIN (R), VERNE (J).

DOYEN	Georges BROUET
1er assesseur	Daniel BARGETON
2e assesseur	Jean GOSSET

A - CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

	MM.
Anatomie	DELMAS (A)
	HUARD (P)
à titre personnel	CABROL (Ch)
- -	OLIVIER (G)
Anatomie et Cytologie pathologiques	DELARUE (J)
à titre personnel	NEZELOF (Ch)
- -	ORCEL (L)
Biochimie médicale	JAYLE (M.F)
	DESGREZ (P)
	POLONOVSKI (J)
Chimie Pathologique	SCHAPIRA (G)
à titre personnel	CARTIER (P)
- -	DREYFUS (J.Cl)
Biologie médicale (à titre personnel)	BOURLIERE (F)
	HARTMANN (L)
Biophysique médicale	BUGNARD (L)
	DJOURNO (A)
	DOGNON (A)

MM.

Biophysique médicale	
à titre personnel	KELLERSHOHN (L)
- -	GOUGEROT (L)
- -	ROUCAYROL (J.Cl)
Cancérologie expérimentale	MATHE (G)
Génétique fondamentale	LEJEUNE (J)
Histologie et Embryologie	COUJARD (R)
	TUCHMANN-DUPLESSIS (H)
à titre personnel	RACADOT (J)
Microbiologie	FASQUELLE (R)
Bactériologie et Virologie	TOURNIER (P)
à titre personnel	BARBIER (P)
Parasitologie	LARIVIERE (M)
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F.P)
à titre personnel	LOEPER (J)
Pharmacologie	BOISSIER (J.R)
	LECHAT (P)
Physiologie	BARGETON (D)
	MALMEJAC (J)
	PARROT (J)
à titre personnel	DEJOURS (P)
Physiologie et biologie appliquée aux sports	SCHERRER (J)

B - CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

I°- Médecine

Biologie médicale	FAUVERT (R)
Histoire de la Médecine et de la Chirurgie	COURY (Ch.)
Hygiène et Médecine préventive	BOYER (J)
Médecine du Travail	DESOILLE (H)
Médecine légale, droit médical et déontologie	DEROBERT (L)
Pathologie exotique	BRUMPT (L.C)
Pathologie médicale	BUGE (A)
	BRICAIRE (H)
	CORNET (A)
	HOUSSET (E)
	LAROCHE (Cl.)

MM.

Pathologie médicale	
à titre personnel	AZERAD (E)
- -	BOUR (H)
- -	BROCARD (H)
- -	CAROLI (J)
- -	FACQUET (J)
- -	LAMBLING (A)
- -	LAUNAY (Cl.)
- -	PAYET (M)
- -	PERRAULT (M)
- -	SIGUIER (F)
- -	WORMS (R)
- -	BOUVIER (J)
Pathologie respiratoire	TURIAF (J)
Pathologie et Thérapeutique générales	MAURICE (P)
Thérapeutique	LAMOTTE (M)
Thérapeutique appliquée	MARCHE (J)

Chaires de Cliniques :

Clinique cardiologique (Boucicaut)	LENEGRE (J)
- - (Broussais)	SOULIE (P)
Clinique dermatologique (St-Louis)	DUPERRAT (F)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (Saint-Louis)	DEGOS (R)
Clinique endocrinologique (Pitié)	DECOURT (J)
Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard)	MOLLARET (P)
à titre personnel	BASTIN (R)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte-Anne)	DELAY (J)
à titre personnel (neuro-psychiatrie)	PICHOT (P)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)	CASTAIGNE (P)
Clinique neurologique (Salpêtrière)	GARCIN (R)
à titre personnel	LHERMITTE (F)
Clinique de neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière)	MICHAUX (L)

		MM.
Clinique des maladies du sang (Broussais)		BERNARD (J)
à titre personnel (hématologie)		ANDRE (R)
- - -		BOUSSER (J)
- - -		DREYFUS (B)
Cliniques médicales	Bicêtre	DEPARIS (M)
	Broussais	MILLIEZ (P)
	Cochin	PEQUIGNOT (H)
	Hôtel-Dieu	BARIETY (M)
	Pitié	DREYFUS (G)
	Saint-Antoine	BOUDIN (G)
	-	CONTE (M)
	-	KOURILSKY (R)
Clinique médicale propédeutique (Broussais)		JUSTIN-BESANCON (L)
Clinique thérapeutique médicale (Saint-Antoine)		LEMAIRE (A)
Clinique et Séméiologie médicales (Antoine-Chantin)		DOMART (A)
Séméiologie médicale (Lariboisière)		BOUVRAIN (Y)
- - (Pitié)		RAMBERT (P)
- - (Rothschild)		WOLFROMM (R)
Clinique d'Hydrologie et de Climatologie (Bichat)		DEBRAY (Ch)
à titre personnel		GIBERTON (A)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies métaboliques (Hôtel-Dieu)		DEROT (M)
Clinique néphrologique (Necker)		HAMBURGER (J)
à titre personnel		RICHET (G)
- -		CROSNIER (J)
Clinique de Génétique médicale (Enfants-Malades)		ROYER (P)
Clinique des maladies des enfants (Enfants-Malades)		MOZZICONACCI (P)
Clinique médicale infantile et de pédiatrie sociale (Enfants-Malades)		MARIE (J)
Clinique de pédiatrie (Trousseau)		BRISSAUD (H)
à titre personnel		LESOBRE (R)
Clinique de pédiatrie et de puériculture (Saint-Vincent-de-Paul)		THIEFFRY (S)

	MM.
Hygiène et Clinique de la première enfance (Trousseau)	LAPLANE (R)
à titre personnel	POLONOVSKI(Cl.)
Clinique de pneumo-phtisiologie (Laennec)	BROUET (G)
à titre personnel	KREIS (B)
- -	MEYER (A)
Clinique de rééducation motrice	GROSSIORD (A)
Electroradiologie	LEDOUX-LEBARD (M) LEFEBVRE (J)
Radiologie médicale	DESGREZ (H)
à titre personnel	FISCHGOLD (H)
- -	TUBIANA (M)
- -	CHERIGIE (E)
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)	DELBARRE (F)
Clinique rhumatologique (Lariboisière)	SEZE (S.de)
Clin. toxicologique (Fernand-Widal)	GAULTIER (M)

2°- Chirurgie

Anesthésiologie	VOURC'H (G)
Pathologie chirurgicale	LAURENCE (G) KUSS (R) N...
à titre personnel	RAMADIER (J)
Physiologie et pathologie obstétricales	MORIN (P)
Technique chirurgicale et chirurgie expérimentale	MONSAINGEON(A)

Chaires de Cliniques :

Clinique carcinologique (Gustave-Roussy)	DENOIX (P)
Clinique carcinologique chirurgicale (Necker)	REDON (H)
à titre personnel	BREHANT (J)

		MM.
Cliniques chirurgicales	Beaujon	LORTAT-JACOB (J.L)
	-	BAUMANN (J)
	Cochin	LEGER (L)
	Hôtel-Dieu	PATEL (J)
	St-Antoine	GOSSET (J)
	Salpêtrière	SICARD (A)
	Tenon	OLIVIER (Cl.)
Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard)		ROUX (M)
Séméiologie et clinique chirurgicales(Broussais)		POILLEUX (F.)
Séméiologie et clinique chirurgicales (Saint-Louis)		DEBEYRE (J)
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique(Cochin)		MERLE d'AUBIGNE(R)
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique (Foch)		PADOVANI (P)
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique (Beaujon)		CAUCHOIX (J)
Clinique traumatologique et orthopédique (Raymond-Poincaré)		JUDET (R)
Clinique de chirurgie infantile et orthopédique(Enfants-Malades)		FEVRE (M)
à titre personnel		CHIGOT (P.L)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais)		DUBOST (Ch.)
Clinique de chirurgie thoracique (Laennec)		MATHEY(J)
à titre personnel		GAUDART D'ALLAINES (Cl. de)
Clinique chirurgicale et gynécologique (Broca)		HUGUIER (J)
Clinique obstétricale (Baudelocque)		LEPAGE (F)
Clinique obstétricale (Saint-Antoine)		MERGER (R)
Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal)		VARANGOT (J)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié)		DAVID (M)
à titre personnel		LEBEAU (J.)

	MM.
Clinique ophtalmologique (Cochin)	BREGEAT (P)
- - (Hôtel-Dieu)	OFFRET (G)
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)	AUBRY (M)
Clinique stomatologique (Salpêtrière)	CERNEA (P)
Clinique urologique (Cochin)	ABOULKER (P)
- - (Necker)	COUVELAIRE (R)

C - PROFESSEURS SANS CHAIRE

Anatomie	GILLOT (Cl.)
Anatomie pathologique	GOUYGOU (Ch.)
Bactériologie	CHRISTOL (D)
Bactériologie	LE MINOR (L)
Biochimie médicale	CARTIER (P) / GONNARD (P) / NORDMANN (J)
Chirurgie	CERBONNET (G)
Hématologie	BESSIS (M) / BILSKI-PASQUIER (G)
Hygiène	BLANCHER (G) / CORRE-HURST (Me L)
Médecine légale	CECCAL (P) / HADENGUE (A) / FOURNIER (E)
Médecine générale	AUSSANNAIRE (M)
Maladies infectieuses	DUPONT (V)
Neuro-psychiatrie	TARDIEU (G)
Pédiatrie	ROSSIER (A)
Physique médicale	COURSAGET (J) / GREMY (F) / PELLERIN (P)
Physiologie	DURAND (J) / GIRARD (Fr.) / HUGELIN (A)
Stomatologie	CHAPUT (Mme A)
Pharmacologie	SCHMITT (H)

D - PROFESSEURS DETACHES DANS LES UNIVERSITES ETRANGERES

Pathologie chirurgicale	RUDLER (J) Pr.s.ch.

E - PROFESSEURS ASSOCIES

	MM.
Hormonologie	MORICARD (R)
Statistique médicale et épidémiologie	SCHWARTZ (D)
Néphrologie	MAXWELL (M)

Secrétaire général de la Faculté	M. LENA (J)
Conseiller administratif	M. SALLIER (G)
Conservateur en Chef de la Bibliothèque Conservateur du Musée d'Histoire de la Médecine	M.le Docteur HAHN (A)
Conservateurs	Mme FORGET (F) Mlles DUMAITRE (P), LAURENT(H),LE NOIR(C
Bibliothécaires	Mmes CONTET (J) Mlles DUROZOY(M.F) ROBERGE (D), LE QUANG LINH (G), REUGE (M)

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A Monsieur le Professeur P. TOURNIER

Professeur à la Faculté de Médecine
de Paris

Qui a bien voulu nous faire
l'honneur d'accepter la
présidence de cette thèse

En hommage de respectueuse
reconnaissance

ETUDE DU POUVOIR ONCOGENE EXPERIMENTAL POUR LE HAMSTER NOUVEAU-NE DE 32 SOUCHES D'ADENOVIRUS HUMAIN TYPE 7 ISOLEES EN FRANCE

-:-

INTRODUCTION

-:-

Dans la recherche d'une étiologie virale à l'oncogènèse humaine, les Adénovirus humains ont acquis une place de choix : en 1962 TRENTIN J.J. et coll. puis HUEBNER R.J. et coll. reconnaissent le pouvoir oncogène expérimental de l'Adénovirus type 12 chez le hamster nouveau-né. Ultérieurement divers types ont également fait preuve d'un pouvoir oncogène expérimental et parmi eux l'Adénovirus type 7 mérite une attention particulière.

Le pouvoir oncogène expérimental de l'Adénovirus type 7 reconnu en 1964 par GIRARDI et coll. et etudié ultérieurement sur un nombre restreint de souches s'est montré moindre que celui de l'Adénovirus type 12 : les tumeurs induites chez le hamster apparaissent dans des delais beaucoup plus longs et avec une fréquence moindre. Mais rien n'indique que les virus les plus suspects dans la cancérogénèse humaine doivent être les plus fortement oncogènes dans le modele expérimental. De plus un autre caractère de cet Adénovirus est la tres grande fréquence de son isolement, en France du moins : il represente les deux tiers des souches d'Adénovirus typés au laboratoire de virologie de l'Hôpital Trousseau à Paris, souches venant de Paris, Lille, Nancy et Rennes.

Il est donc apparu intéressant de vérifier l'existence d'un pouvoir oncogène et d'étudier

les caractéristiques de ce pouvoir oncogène pour 32 souches d'Adénovirus type 7, fraichement isolées chez l'homme, typées au laboratoire de l'Hôpital Trousseau, mais provenant de diverses régions de France.

HISTORIQUE

-:-

La premiere description de l'Adénovirus type 7 par BERGE T.O. remonte à 1955, à l'occasion d'infections respiratoires aiguës. Il répond à la définition des Adénovirus qui se caractérisent par les traits suivants, leur taille de 70 à 90 millimicrons, leur capside ico saèdrique à 252 capsomères, l'absence d'enveloppe, leur acide nucléique qui est une molécule linéaire de DNA de 20 à 25 millions de poids moléculaire, leur effet cytopathogène très particulier (rétraction en dentelle de la nappe cellulaire avec acidification du milieu), leur maturation dans le noyau où apparaissent des inclusions caractéristiques respectant longtemps les nucléoles.

Parmi les 31 sérotypes humains connus (SOHIER 1967) un certain nombre sont oncogènes pour le hamster nouveau-né.

A) Pouvoir pathogène de l'Adénovirus humain type 7 et de divers autres sérotypes d'intérêt majeur. Il faut distinguer le pouvoir pathogène spontane chez l'homme du pouvoir pathogène expérimental chez l'animal.

I - Le pouvoir pathogène chez l'homme

1) L'Adénovirus type 7.

Ce virus a rapidement prouvé son pouvoir pathogène chez l'homme à l'occasion d'epidémies dans les écoles et les casernes et à l'occasion de pneumopathies mortelles du jeune enfant. (Revue générale de HUEBNER R.J. 1959).

Il peut déterminer des infections respiratoires aiguës, au même titre que d'autres sérotypes dont le type 4 essentiellement, des fièvres pharyngo-conjonctivales comme le type 3. Il donne plus exceptionnellement des kératoconjonctivites épidémiques qui sont l'apanage de l'Adénovirus type 8.

Son rôle est particulièrement net dans les pneumopathies aiguës graves parfois mortelles survenant chez le jeune enfant et associant volontiers des signes encéphalitiques. (GABRIELSON, M.O. 1966 - NAHMIAS, A.J. 1967 - ANDREONI, O. 1965 - ANGELA, J.J. 1968 - KAPSENBERG, J.G. 1962 - MALLET, R. 1966 - BENYESHMELNICK, M. 1964 - BEBE, M. 1964 - CHANY, C. 1958).

A l'autopsie le virus a pu être retrouvé à des titres élevés dans les différents viscères avec inclusions caractéristiques dans la paroi bronchique et alvéolaire.

Le type 7 représente d'ailleurs le tiers des Adénovirus typés au laboratoire de l'hôpital Trousseau à Paris sur une période allant de 1962 à 1967 (BRICOUT, F., 1968).

2) Les Adénovirus 1, 2 et 5.

L'Adénovirus 7 s'oppose ainsi aux Adénovirus 1, 2 et 5 parfois responsables de pharyngites et de conjonctivites mais plus souvent isolés à l'état latent par cultures systématiques de tissu amygdalien (ISRAEL, M.S. 1962).

3) L'Adénovirus type 12.

L'Adénovirus type 7 s'oppose encore davantage à l'Adenovirus type 12, rarement isolé chez l'homme, essentiellement dans les selles d'enfants en bonne santé, exceptionnellement dans un cas de meningite (PEREIRA, M.S. 1964), dans quelques cas de syndrome coqueluchoïde avec lymphocytose aiguë (OLSON, L.C. 1964).

Il ne faut pas en conclure que les infections à Adénovirus type 12 soient plus rares que celles à Adénovirus type 7 puisque la présence d'anticorps anti Adénovirus 12 est décélée chez 65 % des enfants dans la tranche d'âge de 6 à 9 ans. (BRICOUT, F.).

Il se dégage néanmoins la grande frequence des infections parfaitement latentes à Adénovirus type 12 contrastant avec le caractère souvent bruyant des infections à Adénovirus type 7.

II - Le pouvoir pathogène expérimental

Le pouvoir pathogène expérimental des Adénovirus humains pour l'animal est tres différent du pouvoir pathogène spontane : chez l'animal entier l'absence de pouvoir pathogène expérimental (hormis le pouvoir oncogène) est un trait des Adenovirus humains avec cependant quelques exceptions concernant les Adénovirus du groupe C (Adénovirus 1, 2, 5 et 6) : infection latente du lapin par le type 5 et infection mortelle du hamster nouveau-né par le type 5 (PEREIRA, H.G. 1957 et 1962).

L'essentiel du pouvoir pathogène expérimental pour l'animal tient au pouvoir oncogène de douze sérotypes humains reconnu soit par inoculation de divers rongeurs nouveau-nés, soit par transformation néoplasique de cul-

tures de cellules in vitro.

B) La decouverte du pouvoir oncogene chez l'animal des Adénovirus humains.

I - Pouvoir oncogène des adénovirus 12, 18 et 31.

C'est avec l'Adénovirus type 12 qu'a été décelé le pouvoir oncogène experimental de certains Adenovirus pour le Hamster Syrien nouveau-né (TRENTIN J.J. 1962).

HUEBNER R.J., la même année confirme ce résultat et precise l'existence d'un pouvoir oncogène analogue de l'Adénovirus type 18.

Le 3e virus à haut pouvoir oncogène est l'Adénovirus, type 31 (PEREIRA, M.S. 1965).

II- Pouvoir oncogène des adénovirus 7, 3, 14, 16 et 21.

C'est en 1964 que GIRARDI, A.J. découvre le pouvoir oncogène pour le Hamster Syrien nouveau-né de l'Adénovirus type 7. LARSON V.M. en 1965 confirme ce resultat avec 3 souches d'Adénovirus type 7.

Mais d'emblée, le pouvoir oncogène de l'Adénovirus type 7 apparaît différent de celui des Adénovirus type 12, 18 et 31 qui constituent le groupe A des virus oncogènes.

En effet, les tumeurs par Adenovirus type 12 apparaissent entre la fin du 1er mois et le 3e mois chez un grand nombre d'animaux, au moins 2 sur 3 et même chez 100 % des animaux par voie veineuse (YOHN, D.S., 1968).

Par contre l'Adenovirus type 7, souche PINCKNEY donne par voie sous-cutanee, dans les

meilleures statistiques (TRUFELLI, G.T., 1967) des tumeurs chez 42 % des animaux. Le temps de latence est beaucoup plus long qu'après inoculation de l'Adénovirus type 12 : les premières tumeurs apparaissent à la fin du troisième mois et certaines apres un an et demi d'observation.

Toutefois, certains stocks d'Adénovirus type 7, dont le stock LLE 46 + passés sur rein de singe et contaminés de ce fait par le virus simien 40 (SV 40) sont apparus susceptibles d'un haut pouvoir oncogène chez le hamster syrien nouveau-ne. Les tumeurs ainsi induites avaient certains des caractères des tumeurs induites par le SV 40 : antigène tumoral et antigène de transplantation spécifique du SV 40, (HUEBNER R.J. 1964).

Il ne s'agissait pourtant pas d'un mélange de virions Adénovirus 7 et SV 40 car le stock avait été purifié par culture en présence de sérum anti SV 40 et au microscope électronique il ne contenait qu'une population de virion dont la capside avait la morphologie de l'Adénovirus. En fait, coexistaient dans cette population 2 types de particules : l'une était l'Adénovirus type 7 authentique et l'autre une particule hybride comportant sous capside d'Adénovirus type 7 un genome SV 40 défectif responsable du pouvoir oncogène spécifique du SV 40. De plus, en dehors de son pouvoir oncogène elevé de type SV 40, cette population avait acquis le pouvoir de se répliquer sur rein de singe avec une production abondante de virions, cette propriété étant absente chez les Adénovirus humains "normaux".
(ROWE, 1965 - LEWIS, 1966 - RAPP, F. 1966 - BOYÉ, A. 1966 - EASTON, 1965 - BAUM, S.G. 1966 - BUTEL, J.S. 1966).

Il est d'ailleurs possible de transférer ce génome à d'autres sérotypes ce qui réalise une nouvelle particule à génome SV 40 défectif sous une nouvelle capside d'Adénovirus. Ainsi à partir des particules initiales appelées PARA A 7 (PARA -particule aidant la réplication des Adénovirus sur rein de singe), on a obtenu des PARA A 1, PARA A 2, PARA 5. Par cette opération de "transcapsidation" on a pu produire des tumeurs avec les Adénovirus types 1, 2, 5 considérés jusqu'alors comme non oncogènes (RAPP, Fred 1967).

Ces hybrides sont des artéfacts de laboratoires non dépourvus d'incidence pratique pour l'homme : dans la recherche d'un vaccin vivant dirigé contre les Adénovirus les plus dangereux (dont l'Adénovirus type 7 précisément) on avait cherché à adapter des souches virales à la culture sur rein de singe en vue d'une production massive.

Certaines de ces adaptations n'étaient en fait que des mélanges d'Adénovirus et de SV 40 à haut pouvoir oncogène pour le hamster nouveau-né, mélange plus ou moins subtil allant de la coexistence de particules distinctes à l'incorporation de genome SV 40 defectif sous capside d'Adénovirus.

L'Adénovirus type 7 n'est pas le seul Adénovirus à avoir fait preuve d'un pouvoir oncogène tardif et relativement faible (HUEBNER R. J. en 1965 établit le pouvoir oncogène de l'Adénovirus type 3 chez le hamster nouveauné en obtenant une tumeur sur 8 animaux, puis une tumeur sur 17 animaux, tumeurs apparues respectivement au 275e et au 151e jour. Là encore il s'agit comme pour l'Adénovirus type 7 d'un sérotype donnant des infections fréquentes patentes.

PINA, M. et GREEN, M. (non publié) démontrent un pouvoir oncogène analogue pour les Adénovirus types 14, 16 et 21, qui sont dès lors rangés avec les types 3 et 7 dans le groupe B des Adénovirus peu oncogènes.

III - Pouvoir oncogène des Adénovirus, 1, 2, 5 et 6.

Enfin, grâce à l'utilisation d'un système cellulaire particulier (culture primaire in vitro des cellules embryonnaires de rat) un pouvoir transformant a été assigné à des virus réputés non cancérigènes : les types 1, 2, 5 et 6. (FREEMAN, A., 1967 - BILDEN, R.V. 1968). Il est à noter que les cellules transformées ainsi obtenues n'ont jusqu'à présent pu reproduire des tumeurs par inoculation à l'animal entier. Ces stérotypes constituent le groupe C des Adénovirus oncogènes.

Il importe dès lors de définir ce qu'est le pouvoir oncogène des Adénovirus, le caractère des cellules tumorales obtenues, les rapports entre les différents sérotypes et groupes de sérotypes oncogènes.

C) L'Oncogénèse virale dans le cas des Adénovirus.

La plupart des études fondamentales sur le pouvoir oncogène et la cellule tumorale portent sur l'Adénovirus type 12 et bien des caractères de l'Adénovirus type 7 quant à l'oncogénèse ne sont connus que par comparaison avec ceux de l'Adénovirus type 12.

I - Quels sont tout d'abord les systèmes cellulaires susceptibles de transformation néoplasique de par l'action des Adénovirus ?

1) Les différents types de cellules et leur aptitude à la réplication virale.

a) Cellules assurant un cycle complet de replication.

Il convient, en effet, de preciser d'abord quels types de cellules sont susceptibles d'assurer un cycle viral complet menant à la reproduction de virus infectieux d'une part et à la destruction de la cellule, d'autre part. Il s'agit essentiellement de cellules épithéliales humaines soit des lignées continues d'origine néoplasique (Cellules Hela ou KB) soit des cellules épithéliales en culture primaire (cellules de rein humain, d'Amnios humain, de corp thyroïde). La multiplication des adénovirus sur fibroblastes humains est soit réduite soit nulle.

b) Cellules dans lesquelles le cycle viral est le plus souvent abortif.

Sur tissus de singe, de lapin, de rat ou de souris, il y a peu ou pas de production de virus. L'adaptation au rein de singe n'est souvent que le fait d'artifice technique : association avec le SV 40 susceptible de réaliser les particules hybrides du type PARA, association à des Adenovirus simiens dont le SV 15 (NAEGELE, R.F.), hybridisation avec un génome défectif inconnu réalisant des particules MAC (Monkey Adapting component - RAPP F. 1967 - BUTEL, J.S. 1967). Sinon, sur ces cellules animales le cycle viral se limite, en général, à la production d'antigènes precoces et éventuellement de DNA, mais la production d'Adénovirus, quand elle existe, depasse rarement l'inoculum. (RAPP, F. 1966 - id. 1967 - LEVINTHAL, J.D. 1966).
On a d'ailleurs vu le peu de pouvoir pathogène expérimental chez l'animal de la plupart des Adénovirus humains.

Il se trouve donc que ce sont des cellules incapables d'assurer le cycle infectieux complet qui prêtent à l'expression du pouvoir oncogène.

2) Pouvoir oncogène in vivo.

Celui-ci a eté reconnu initialement par inoculation de hamsters nouveau-nés de moins de 24 heures avec apparition d'une tumeur sous-cutanée dorsale en pratique habituelle (point d'inoculation). L'utilisation de la voie veineuse a montré que les cellules les plus aptes à subir la transformation néoplasique par Adénovirus type 12, sont les cellules hépatiques et à un moindre degré les cellules rénales (YOHN, D.S. 1968).

Le pouvoir oncogène du type 12 a été retrouvé, mais avec un moindre taux de tumeur, chez la souris (YABEY 1964), le rat (HUEBNER R.J. 1963) et le mastomys (RABSON, 1964).

Certains facteurs influent sur la fréquence des tumeurs obtenues chez l'animal par l'Adonovirus type 12.

Les tumeurs n'apparaissent chez la souris BALB/c et C 3 H/He N d'une part et chez le hamster syrien adulte d'autre part, qu'après thymectomie à la naissance. (KIRSCHENSTEIN, R.L. 1964 - SAMAILLES, J. 1967). Les hamsters mâles sont moins sensibles que les hamsters femelles. La dose tumeur 50 % est de $10^{6,25}$ TCID 50 % sur rein embryonnaire humain pour les mâles et de $10^{5,90}$ pour les femelles. (YOHN, D.S. I et II, 1965 et 1967).

L'injection de 0,5 mg de 5 Iodo 2' desoxyuridine au même site que l'Adénovirus inhibe l'apparition de tumeur chez le hamster nouveau-né (HUEBNER 1963).

3) Pouvoir oncogène in vitro.

Fait intéressant , l'obtention d'une transformation néoplasique est possible sur des cellules cultivées in vitro.
Cellules de rein de hamster (Mc BRIDE, 1964). Ceci a permis de titrer une preparation virale en U.F.F. (unités formant foyer de transformation) et d'établir le rapport UFP/UFF (UFP : unité formant une plage).

Ce rapport est sur ce système de $1,8 \times 10^6$ pour le type 12.

Sont transformables par l'Adénovirus 12, les cellules de rein de lapin (LEVINTHAL , 1965), les cellules embryonnaires de hamster chinois (BRAILOWSKI, 1967) dès lors susceptibles de donner des tumeurs par transplantation chez l'animal nouveau-né alors que ce dernier inoculé par le virus ne donne pas de tumeur. Les cellules embryonnaires de rat se sont montrées transformables par le type 12 (FREEMAN, A.E. 1967) en 18 à 36 jours avec un rapport UFP sur UFF de $2,5 \times 10^5$.

C'est ce système qui a permis, en milieu pauvre en calcium (0,1 m Molaire) d'établir le pouvoir transformant, sinon cancérigène des types 1, 2, 5 et 6. (FREEMAN, A.E. 1967 et GILDEN, R.V. 1968).

Enfin des cellules fibroblastiques de poumon embryonnaire humain ont été transformées par action du type 12 en une lignée continue ayant les caractères des cellules transformées par l'Adénovirus type 12, en particulier, résistance à la réinfection à l'"Adénovirus 12, contrairement à d'autres lignees continues obtenues en dehors de l'action de l'Adénovirus type 12. (SULTANIAN, I.V.). Les cellules trans-

formées in vitro peuvent être assimilées aux cellules tumorales sensu stricte du fait qu'elles déterminent par inoculation chez l'animal homologue, nouveau-né au besoin, des tumeurs identiques aux tumeurs provoquées par l'injection directe du virus.

Ce caractère toutefois n'a pu être démontré pour les cellules de rat embryonnaire transformées par les Adénovirus du groupe C, sauf emploi de sérum antithymocytaire (VANDEPUTTE 1968) et naturellement n'a pas été recherché sur la lignée continue obtenue par Sultanian.

2) Caractères morphologiques et de culture des cellules transformées et des cellules tumorales.

1) Les tumeurs obtenues chez l'animal ont toujours été étiquetées épithélioma très indifférencié et sont donc différentes des fibro-sarcomes à cellules géantes obtenues par le SV 40. Macroscopiquement elles ont un aspect typique avec surface cérébroïde et nécrose centrale très précoce. Ces tumeurs sont transplantables en série chez l'animal homologue et les cellules transformées in vitro induisent des tumeurs transplantables en série aux seules réserves déjà vues.

2) Dans tous les cas, les cellules obtenues par culture soit de tumeur soit de clone cellulaire de foyers de transformation in vitro sont capables de multiplication indéfinie en lignée continue. Elles ont perdu l'inhibition de contact et donne des colonies en milieux gélosés.

3) La culture des cellules tumorales ou trans-

formées par l'Adenovirus type 12 exige, sous peine d'agrégation des cellules, un milieu pauvre en calcium, c'est à dire 0,1 m Molaire (les milieux usuels sont 1,8 m Molaire en calcium). (FREEMAN, A.E. 1965).

4) Ces cellules tumorales transformées par l'Adénovirus 12 exigent un facteur nutrifif contenu dans (ou associé à) l'hemoglobine et cette exigence ne concerne pas les cellules transformées par le polyoma virus ou le SV 40. LORANS, G. 1964.
Enfin la fragilité de ces cellules à la trypsinisation, aux centrifugations en rend la culture délicate en pratique courante.

5) Les études chromosoniques n'ont pas décelé d'anomalies caractéristiques de la transformation néoplasique par l'Adénovirus type 12. (FJELDE, A. 1964 - MACKINNON, E. 1966 - STICH, H.F. 1965 - CASSINGENA, R. 1966 I et II - BRAILOWSKY C. 1967).

6) Des anomalies mitochondriales d'apparition cyclique (mitochondries geantes avec effacement des crêtes et fibres contenant du DNA) ont été décrites dans plusieurs lignées de cellules tumorales induites chez le hamster par l'Adénovirus 12. Ces anomalies n'ont pas été retrouvées dans les cellules tumorales induites par le polyoma virus ou le SV 40. BERNHARDT, W. 1966. LEDUC, E.H. 1965.

3) Preuves genétiques de l'origine virale de la transformation cellulaire.

Très intéressants sont les caractères cellulaires en faveur de la presence d'une partie du génome viral à l'interieur des cellules tumorales ou transformées in vitro.

1) La plupart des auteurs n'ont pas trouvé de virions infectieux dans les cellules transformées. Toutefois, il faut signaler les publications de MARTI A. 1968 qui identifie des particules infectieuses Adénovirus type 12 dans des cellules issues de tumeurs. SMITH, K.O. 1964 y visualise des particules évoquant des virions incomplets non infectieux. Il convient de noter que la découverte de petites quantités de virus infectant est habituelle dans les cellules tumorales induites par le SV 40 (SABIN, A.B. 1963).
Enfin SAMAILLE J. n'a trouvé d'anticorps inhibant d'hémagglutination que chez les hamsters porteurs de tumeur primaire induite par l'Adénovirus 12 et non en cas de tumeurs transplantées.

2) Par contre, deux antigènes de spécificité virale sont présents dans les cellules transformées :
- l'antigène de transplantation et l'antigène tumoral communément dénommé antigène T.

a) L'antigène de transplantation est reconnu par la résistance induite chez l'animal adulte à la transplantation de cellules tumorales au moyen d'une immunisation préalable de l'animal, immunisation vis-à-vis du virus responsable de la transformation tumorale.
Une étude de BERMAN, L.D. 1967 porte sur l'antigène de transplantation de l'Adénovirus 12 dans les cellules tumorales de souris CBA. Il établit que l'immunisation n'est facile à obtenir que par virions et non par matériel cellulaire tumoral ; qui plus est de petite quantité de matériel cellulaire risque de donner un phénomène de facilitation de prise de greffe. L'immunisation par

extraits cellulaires de tumeur ne donnait aucun anticorps anti antigène T 12 même chez les rares souris rendues résistantes à la transplantation. BERMAN confirme que l'immunité de transplantation est transmissible par les immuns-lymphocytes et que le sérum ne joue qu'un rôle réduit. Les virions détruits par chauffage ou leurs unités de structure sont incapables d'induire l'immunité. Celle-ci nécessite l'utilisation de virus infectieux.
L'antigène de transplantation Adénovirus 12 se comporte comme un antigène d'histocompatibilité de faible puissance, distinct de l'antigène T et des antigènes de structure. N'ayant pas obtenu d'immunité de transplantation par hétéroimmunisation de la souris au moyen d'extraits cellulaires de tumeur de hamster, BERMAN ne peut trancher le problème d'une éventuelle communauté entre antigène de transplantation de cellule tumorale de souris et de cellule tumorale de hamster.

Une technique d'inhibition des colonies en gélose pourrait affirmer cette communauté antigènique ; communaute antigénique qui plaide en faveur du codage viral de cet antigène. Mais il reste à prouver de façon formelle que cette technique décèle dans le cas présent les mêmes antigènes que l'immunité de transplantation. (HELLSTRÖM, I. 1967)

b) Les antigènes T ont été beaucoup plus étudiés, grâce aux techniques de fixation du complèment et d'immunofluorescence. Il n'est pas certain que les deux techniques décèlent les mêmes antigènes car les communautés antigèniques des anti gènes T des divers adenovirus diffèrent selon la technique employée.

L'antigène T (ou les antigènes T) est décélé dans les cellules issues de tumeurs ou de foyers de transformation in vitro, ceci grâce au sérum des animaux porteurs de tumeur.
On le retrouve également dans les cellules subissant un cycle abortif (cellules de singe, de lapin) et dans les cellules subissant un cycle infectieux (HOGGAN, M.D. 1965) Il s'identifie à l'antigène (ou aux antigènes) précoce qui apparait à la 6e heure après l'inoculation.
Les antigènes virioniques ou antigènes de structure n'apparaissent en cycle infectieux qu'à la 10e heure après l'inoculation En immunofluorescence l'antigène T se visualise sous forme de fibrilles, de flammèches ou d'étoiles nucléaires et cytoplasmiques.
Les antigènes V (de structure) ont l'aspect de grains brillants remplissant tout le noyau sur un fond de fluorescence diffuse respectant les nucléoles.
A l'aide d'anticorps anti T 12 marqués à la ferritine, KALNINS V.I. (1967) a assimilé cet antigène aux faisceaux de fibrilles observés au microscope électronique dans le noyau ou le cytoplasme des cellules infectées subissant un cycle complet de replication virale.
Le rôle de cet antigène T n'est nullement établi ni dans la transformation maligne ni même dans le cycle infectieux ; on ne lui connait pas de propriétés enzymatiques. Il faut jusqu'à preuve du contraire le considérer comme un simple indice de la présence de génome viral dans les cellules ('Fingersprint'). D'autres preuves plus directes existent de l'incorporation du génome viral dans les cellules transformées.
Par formation d'hybrides entre DNA viral et

RNA de cellules tumorales, FUJINAGA K. démontre l'existence d'un RNA transcrit du DNA viral, présent dans les polyribosomes (FUJINAGA, K. 1966) et dans le noyau (FUJINAGA, K. 1967). Ce résultat obtenu avec des cellules tumorales induites par le type 12 est confirmé avec les types 3, 7, 14 et 16. Enfin DOERFLER, W. en 1968 avance des preuves en faveur d'une liaison entre DNA viral et DNA cellulaire dans des cellules en lignée continue de rein de hamster nouveau-né (BHK 21), cellules susceptibles de transformation néoplasiques par l'Adénovirus type 12.

D) Le pouvoir oncogène de l'Adénovirus type 7 comparé à celui des autres adénovirus.

Dans toutes les études qui précédent l'Adénovirus type 12, tient la première place, simplement du fait de son grand pouvoir oncogène. C'est donc surtout par ses rapports avec les autres Adénovirus que va se preciser le pouvoir oncogène de l'Adénovirus type 7.

La classification des virus oncogènes en 3 groupes A, B et C repose essentiellement sur le dégré du pouvoir oncogène, les différences et communautés antigéniques entre les antigènes T exprimées en fixation du complément, les caractères du DNA VIRAL et du RNA transcrit sur le DNA viral dans les cellules tumorales. Si l'on reprend les divers éléments evoquant la présence du génome viral dans les cellules transformées, la distinction en trois groupes n'est pas toujours bien tranchee.
Ainsi l'immunité de transplantation vis-à-vis des cellules transformées par l'Adénovirus type 12 est inductible, non seulement par le ty-

pe 12 mais aussi par le type 7 et suivant les auteurs elle est ou n'est pas induite par le type 5. (BERMAN, L.D. 1967 - SCHILD G.C. 1967 SJÖGREN H.O. 1967).

Dans les diverses études d'HUEBNER R.J. en fixation du complément, l'antigène T apparait bien spécifique de groupe, c'est à dire commun d'une part, à tous les Adénovirus du groupe A et commun, d'autre part, à tous les Adénovirus du groupe B.
De même, en fixation du complément, l'antigène T des Adénovirus du groupe C est commun aux différents membres du groupe et diffèrent de celui des groupes A et B (GILDEN, R.V. 1968). En immunofluorescence par contre il existe une communauté antigénique entre antigène T 12 et T 7. (HAYASHI K. 1968 - RIGGS, J.L. 1965).

Enfin l'étude des acides nucléiques est très parlante et amène à cerner au mieux les communautés entre Adénovirus oncogènes.

Alors que le G C % des cellules de mammifères est de 41 à 42, les Adénovirus 2, 4 et 5 ont un DNA de G C % égal à 56-57 et les Adénovirus 12 et 18 un DNA de G C % égal à 47 (proche de celui du DNA du polyomavirus), (GREEN, M. and PINA, M. 1963).

Le DNA des Adénovirus 7 et 16 a un G C % de valeur intermediaire : 50 à 52 - (PINA, M. and GREEN, M. 1965).

Les experiences d'hybridisation entre le DNA des différents virus à la recherche d'une homologie de structure demontrent tout d'abord une corrélation totale (hybridisation à 100 % entre 6 souches d'Adénovirus type 7).

La corrélation entre DNA des Adénovirus type 12 et 18 est étroite : hybridisation à 80% L'hybridisation est par contre très restreinte (10 à 20 %) entre Adénovirus type 7 d'une part et Adénovirus type 12 et 18 d'autre part. Ceci suggère que les Adénovirus type 7 d'une part et types 12 et 18 d'autre part, n'auraient en commun que 2 à 6 cistrons, le poids moleculaire du DNA viral etant de 23 x 10^6 (Sister LACY, 1965).

Enfin l'etude du G C % du RNA viral contenu dans les cellules tumorales transformees par l'Adénovirus mène à des conclusions très précises, mais nuancées quant aux parentés entre virus oncogènes. (FUDJINAGA, K. 1968).
Elle montre que le RNA viral des cellules transformées par types 12 et 18 a un G C % de 47-48 en accord avec le G C % du DNA viral (48-49).

Par contre le DNA des adenovirus 7 et 16 a un G C % de 50 à 52, alors que le G C % du RNA viral des cellules transformees par ces virus est comme précedemment egal à 47-48. On pourrait en conclure que sont transcrits préférentiellement dans les cellules transformées les segments de DNA ayant un G C % de 47 à 48, c'est à dire un G C % proche de celui du DNA cellulaire.

Cependant les RNA viraux des cellules transformées par Adenovirus 12 et 18 d'une part, 7 et 16 d'autre part, diffèrent par leur composition en base lorsqu'on étudie ces bases individuellement ou par couple de bases voisines. Autrement dit, ils diffèrent par leur séquence.

Finalement, l'information codee par le virus et impliquée dans le pouvoir oncogène parait differer selon le groupe A ou B. Cette diffé-

rence de séquence laisse pourtant place à un ou plusieurs segments de sequence commune couvrants 5% du RNA transcrit dans les cellules tumorales.

Le but de cette thèse était de rechercher le pouvoir oncogène de souches d'adénovirus type 7 isolees dans divers laboratoires français (Lille, Nancy, Paris, Reims) et de vérifier certains aspects immunologiques de l'oncogène se par l'Adénovirus type 7.

-:-

MATERIEL ET METHODES

-:-

A) VIRUS

L'origine des souches virales est indiquée par le tableau N° 1.

Le nombre et la nature des passages sur culture cellulaire avant réception au laboratoire de l'Hôpital Trousseau ne sont pas toujours connus. Ceci est notifié par le signe x suivi de l'indication des passages faits à l'Hôpital Trousseau.

L'histoire clinique de 9 souches isolees à l'Hôpital Trousseau est indiquee par le tableau II.

Au laboratoire de Trousseau, le virus était passé une fois sur cellules KB avec recueil des cellules à l'acmée de l'effet cytopathogène et 3 cycles de congélation et décongélation.

Le virus était titré par hémagglutination de globules rouges de cercopithèque et typé par inhibition de l'hémagglutisation selon la technique de ROSSEN L. (1960) qui utilise 4 unités hésagglutinantes.

TABLEAU I : ORIGINE DES SOUCHES VIRALES

N° de la souche virale pour cette étude	Appelation de la souche au laboratoire d'origine	Passage sur cellule Type de cellule et nombre de passage
1	TROUSSEAU : Napoléon	(KB x 6)
2	TROUSSEAU : 660419	(KB x 2)
3	TROUSSEAU : 651505	(Amnios x 2)+ (KB x1)
4	REIMS : 5250	x + (KB x 1)
5	TROUSSEAU : 670374	(KB x 1)
6	NANCY : 66266	x
7	NANCY : 66237	x + (KB x 1)
8	NANCY : 62407	x
9	NANCY : 62910	x + (KB x 1)
10	NANCY : 66473	x + (KB x 1)
11	TROUSSEAU : 641485	(KB x 1)
12	TROUSSEAU : Autopsie n° 20 - Foie	(Amnios x1) +(KB x 1)
13	TROUSSEAU : 651505	(KB x 2)
14	TROUSSEAU : 65272	x + (KB x 1
15	REIMS : 5447	x
16	TROUSSEAU : 650035	(KB x 2)

17	REIMS : 6005	x
18	REIMS : 5449	x
19	NANCY : 30.3.65	x
20	NANCY : 62875	x
21	REIMS : 5366	x
22	REIMS : 5274	x
23	NANCY : 651292	x
24	REIMS : 5430	x
25	REIMS : 5244	x
26	LILLE : 6276638	x
27	NANCY : 66474	x
28	NANCY : 661081	x
29	LILLE : 611474	x
30	TROUSSEAU : 66548	(KB x 2)
31	TROUSSEAU : 64231	x
32	NANCY : 67309	x

TABLEAU II - HISTOIRE CLINIQUE DE

N° de la souche virale	Point d'isolement chez le malade	Autres recherches et résultats	Syndrome clinique
1	Larmes		Conjonctivite
2	Selles	Gorge = Adéno 7	Broncho-pneumonie avec signes méningés
3	Gorge	Selles = Adéno 7	Toux persistante
5	Selles	Gorge = Adéno 7 LCR=négatif	Signes méningés cliniques
12	Foie	Coeur, poumons, reins, rate, cerveau=négatifs	Autopsie de cardiopathie congénitale
13	Gorge	Selles = Adéno 7	Rhino-pharyngite
14	Gorge	Selles = négatif	Rhinobronchite
16	Selles	Gorge = négatif	Pneumopathie
30	Selles	Conjonctive = A 7	Conjonctivite

9 SOUCHES VIRALES

Sérologie	
en inhibition de l'hémagglutination	en fixation du complément spécifique de groupe
$S1 < \frac{1}{10}$ $S\ 2 = \frac{1}{40}$	$S\ 1 < \frac{1}{10}$ $S\ 2 = \frac{1}{40}$
$S1 < \frac{1}{10}$ $S\ 2 = \frac{1}{40}$	
$S1 < \frac{1}{10}$ $S\ 2 = \frac{1}{80}$	
$S1 < \frac{1}{10}$ $S\ 2 = \frac{1}{10}$	$S\ 1 < \frac{1}{10}$ $S\ 2 \leqslant \frac{1}{40}$
$S1 = \frac{1}{40}$ $S\ 2 = \frac{1}{40}$	$S\ 1 \leqslant \frac{1}{40}$ $S\ 2 = \frac{1}{40}$
$S1 < \frac{1}{10}$ $S\ 2 = \frac{1}{160}$	

Seules ont été retenues pour inoculation les préparations titrant au moins 64 UHA.

B) ANIMAUX.

Les hamsters syriens étaient ceux de l'animalerie du CNRS de Villejuif. Par souche de virus ont éte inoculées une ou pluqieurs portées d'animaux de moins de 24 heures, par voie sous-cutanée dorsale, sous le volume de 0,1 ml de préparation virale non diluée.

C) LE MILIEU DE CULTURE

Le milieu de culture pour cellules tumorales était un mélange de une partie de MEM 0011 (Laboratoire Eurobio) pour 17 parties de MEM 1031 Spinner, ce mélange assurant une concentration 0,1 m Molaire en calcium. Il lui était adjoint 2,65 g/l de Tryptose Phosphate Broth (Difco), 3,5 g/l de glucose, 10 p. cent de sérum de veau décomplémenté et des antibiotiques : Pénicilline, Streptomycine, Colymicine et Kanamycine aux doses usuelles ((100.000 u/l - 0,1 g/l - 40 mg/l et 40 mg/l respectivement).

D - IMMUNOFLUORESCENCE

L'immunofluorescence pour recherche d'antigène T en culture sur lamelle :
les cellules étudiées ont été :

1) des cellules tumorales en lignée continue obtenue à partir d'une tumeur secondaire induite par la souche n°1 (LC Ha Tu^2 A 7 n°1).

2) des cellules de rein de Lapin en lignée continue (RK 13) infectées par une souche d'Adénovirus type 12 (Dr. ROSEN L.) et fixées à froid par l'acétone 24 heures après l'inoculation, ceci pour étude de l'antigène T 12 (RK 13 + A 12).

3) Une lignée continue issue d'une tumeur induite chez le hamster par le SV 40 et fourni par le laboratoire de Virologie du CNRS à Villejuif (L C Ha Tu SV 40).

Après 5 trempages rapides dans l'eau courante les lamelles étaient fixées à l'acétone pendant 5 minutes à + 4°C.

II - LES SERUMS

Les sérums d'animaux porteurs de tumeur ont été dilués au 1/5 en P.B.S. Il s'agissait d'animaux porteurs soit de tumeur primaire, soit de tumeur secondaire obtenue par transplantation de tumeur primaire à des animaux de 1 mois. Le prélèvement de sang était réalisé par ponction de l'angle interne de l'oeil à la pipette Pasteur.

III - TECHNIQUE D'IMMUNOFLUORESCENCE

La technique d'immunofluorescence mise au point au laboratoire permettait l'étude de plusieurs sérums sur la même lamelle. Les sérums utilisés étaient déposés sur la lamelle sèche sous le volume d'une microgoutte. Dans le but de faciliter le repérage lors de la lecture, la disposition des gouttes correspondait à un canevas constant obtenu en posant la lamelle sur une feuille de papier millimétrique. Le quadrillage millimétrique transparaissait à travers la nappe de culture fixée. L'élimination des sérums du hamster après le temps de fixation de 1/2 heure à la température du laboratoire se faisait en trempant rapidement 20 fois la lamelle dans 3 bains successifs de P.B.S.

Le sérum fluorescent antiglobuline de hamster était le sérum de Lapin de l'Institut Pasteur dilué à raison de 2 microgouttes pour 1 ml de P.B.S.

Il recouvrait la totalité de la lamelle pendant une demi-heure à la température du laboratoire. L'absence de marquage intempestif des cellules avec les sérums positifs par l'inter-

médiaire d'une diffusion dans les bains de P.B.S. a été vérifiée par l'inclusion de sérums témoins négatifs et l'examen de la nappe de culture entre les points d'impact des microgouttes de sérum.

Afin d'éviter l'étalement et la confluence des microgouttes de sérum, il était nécessaire d'utiliser des lamelles de cultures presque confluentes.

Pour empêcher à l'inverse une dessication des microgouttes, les lamelles étaient déposées dans une boîte hermétique tapissée de ouate humidifiée.

-:-

RESULTATS

-:-

A - Le nombre de tumeurs obtenues et leur date d'apparition est donné par le tableau III.

26 souches virales étudiées sur 32 ont donné des tumeurs à cortex cérébroïde et centre nécrotique typiques des tumeurs à adénovirus. Une étude de l'ensemble des tumeurs obtenues mais limitée aux portées qui ont pu être observées sur un an ou plus, donne 50 tumeurs pour 238 hamsters ayant résisté au sevrage, soit 21 p.cent.

La date d'apparition des tumeurs dans cette étude restreinte permet la répartition suivante :

- aucune tumeur pendant les 2 premiers mois
- 19 tumeurs apparaissent au 3e au 5e mois inclus
- 14 du 6e au 8e mois inclus et 14 du 9e au 12e mois inclus.

Finalement 33 tumeurs sur 50, soit 66 p.cent, apparaissent au cours du second semestre.

B - La recherche des anticorps anti T adénovirus 7, anti T adénovirus 12 et anti T SV 40 a été faite sur le sérum de la plupart des animaux porteurs de tumeur primaire : toutes les souches virales ayant mené à des tumeurs ont été couvertes par cette étude sauf la souche n°7. (précipité non spécifique du sérum des

TABLEAU n°III : TUMEURS ET DATE D'APPARITION

N° de la souche virale et n° des portées		Nb d'animaux par portée	Nb d'animaux survivant au sevrage	Tumeurs NB et date d'apparition en mois	Animaux morts sans tumeur		
					Avant 1 an	De 1 an à 18 mois	De 18 mois à 2 ans
1	P 1	9	6	3 Tu: 5 m1/2 ; 6 m1/2 ; 13 m	0	2	1 ECO (en cours d'obs.)
2	P 1	7	7	1 Tu régressive 12 m 1/2	1	0	ECO
	P 2	6	6	2 Tu : 5 m; 6m½	0	2	ECO
	P 3	9	1	0	ECO		
3	P 1	5	5	1 Tu : 5 m	1	1	ECO
	P 2	3	0	ECO			
4	P 1	6	5	1 Tu : 8 m 1/2	0	0	ECO
	P 2	7	7	2 Tu : 9 m 1/2 ; 11 m	3	ECO	
5	P 1	6	6	0	1	1	ECO
	P 2	5	3	1 Tu : 8 m	0	ECO	
	P 3	9	7	1 Tu : 6 m	1 ECO		

TABLEAU n°III : (suite)

N° de la souche virale & n° des portées		Nb d'animaux par portée	Nb d'animaux survivant au sevrage	Tumeurs Nb et date d'apparition en mois	Animaux morts sans tumeur		
					Avant 1 an	De 1 an à 18 mois	De 18 mois à 2 ans
6	P 1	8	8	2 Tu: 6m;11m	1	ECO	
7	P 1	9	7	1 Tu: 8 m ½	0	1	ECO
	P 2	6	6	1 Tu: 5 m ½	ECO		
	P 3	9	7	0	ECO		
8	P 1	11	11	1 Tu: 4 m	2	0	ECO
9	P 1	5	3	1 Tu: 8 m ½	1	2	Mort de tous les animaux
	P 2	10	9	5 Tu: 3m½; 3m½ 6m;6m;12m½	2	1	ECO
10	P 1	6	3	0	0	0	ECO
	P 2	6	3	2 Tu; 3m; 11m½	0	ECO	
11	P 1	8	7	2 Tu: 4m; 8m	2	1	ECO
12	P 1	8	7	3 Tu: 7m; 7m; 8m	0	0	1 ECO
13	P 1	8	7	1 Tu: 5 m	0	2	ECO

TABLEAU n°III : (suite)

N°de la souche virale & n° des portées		Nb d'animaux par portée	Nb d'animaux survivant au sevrage	Tumeurs Nb et date d'apparition en mois	Animaux morts sans tumeur		
					Avant 1 an	De 1 an à 18 mois	De 18 mois à 2 ans
14	P 1	5	3	0	3=mort de ts les an.		
	P 2	5	5	0	1	ECO	
	P 3	8	8	0	2 ECO		
15	P 1	6	3	0	3=mort de ts les an.		
	P 2	7	7	0	0	ECO	
16	P 1	8	6	3 Tu: 5m; 5m; 5 m ½	0	0	ECO
17	P 1	6	1	0	0	0	ECO
	P 2	7	7	1 Tu: 4m½	1	0	ECO
	P 3	6	5	0	ECO		
18	P 1	6	4	1 Tu: 4m½	0	1	ECO
	P 2	8	1	0	0	ECO	
	P 3	4	3	0	0	ECO	
19	P 1	10	10	0	1	2	1 ECO

TABLEAU n°III : (suite)

N°de la souche virale & n° des portées	Nb d'animaux par portée	Nb d'animaux survivant au sevrage	Tumeurs Nb et date d'apparition en mois	Animaux morts sans tumeur		
				Avant 1 an	De 1 an à 18 mois	De 18 mois à 2 ans
20 P 1	5	5	1 Tu:4m½	4=mort de ts les an.		
P 2	9	9	1 Tu:4m reg. 1 Tu:11m	0	ECO	
21 P 1	10	8	2 Tu:8m 12m½	1	0	ECO
22 P 1	8	3	0	1	0	ECO
P 2	9	4	0	2	ECO	
23 P 1	3	3	1 Tu:8m	0	0	ECO
P 2	9	5	2 Tu:5m;11m;	0	0	1 ECO
P 3	5	4	0	1	ECO	
24 P 1	6	5	2 Tu:4m;5m 1 Tu:9m reg.	1	0	ECO
25 P 1	4	3	1 Tu:8m	0	1	ECO
P 2	6	5	3 Tu: ;7m 9 m	0	ECO	

TABLEAU n°III : (suite)

N° de la souche virale & n° des portées		Nb d'animaux par portée	Nb d'animaux survivant au sevrage	Tumeurs Nb et date d'apparition en mois	Animaux morts sans tumeur		
					Avant 1 an	De 1 an à 18 mois	De 18 mois à 2 ans
26	P 1	7	5	2 Tu:10m½ 13m	0	ECO	
27	P 1	5	5	0	2	2 ECO	
	P 2	10	8	0	ECO		
28	P 1	5	5	0	0	0	ECO
	P 2	9	3	0	0	ECO	
29	P 1	7	7	1 Tu:10m	1	0	ECO
30	P 1	7	6	1 Tu:10m	0	ECO	
31	P 1	7	4	0	ECO		
	P 2	7	4	0	ECO		
	P 3	6	3	1 Tu:7m	ECO		
32	P 1	2	1	1 Tu:7m, mort du seul animal			
				1 Tu:13 m	0	ECO	

Signification des abréviations : P : Portée ; Tu: Tumeur ; m : mois ;
Tu: tumeur régressive
ECO : en cours d'observation

2 hamsters porteurs de tumeur primaire). Les résultats de cette étude sont consignés dans le tableau IV.

Les résultats dits douteux (d) correspondent à des sérums donnant une fluorescence très faible ou localisée à un nombre très restreint de cellules.

Aucun sérum ne montrait d'anticorps anti-antigène T SV 40.

Les anticorps anti T adénovirus 7 ont été retrouvés chez 31 hamsters ; ils manquaient chez 6 hamsters et 7 hamsters donnaient une réponse douteuse.

Les anticorps anti T adénovirus 12 ont été retrouvés chez 18 hamsters, ils manquaient chez 20 hamsters et 5 hamsters donnaient des résultats douteux.

Une étude analogue mais comportant de plus un dosage des anticorps inhibant l'hémagglutination de la souche 9 a été menée sur des hamsters porteurs de tumeur secondaire : 3 hamsters pour chacune des souches 1, 3, 5, 9, 11, 13 et 20.

Les résultats consignés dans le tableau V montrent l'absence au 1/10 d'anticorps inhibant l'hémagglutination et une fréquence d'anticorps anti T adénovirus 7 et anti T adénovirus 12 beaucoup plus grande qu'avec les hamsters porteurs de tumeur primaire :

Anticorps anti T 7 chez tous les hamsters sauf ceux correspondant à la souche n°11. Anticorps anti 12 chez tous les hamsters porteurs de tumeur induite par les souches n°1, 3, 5 et 20. Un résultat douteux pour deux positifs avec la souche virale n°9. Deux résultats négatifs pour un positif avec la souche

n°13 et pas d'anticorps anti T 12 chez les 3 hamsters porteurs de tumeur secondaire induite par la souche n°11. Comme précédemment aucun hamster n'a d'anticorps anti antigène T SV 40.

-:-

TABLEAU n°IV : SEROLOGIE DE HAMSTERS PORTEURS DE TUMEURS PRIMAIRES

N°de la souche virale et n°du hamster porteur d'une tumeur primaire correspondante		LC Ha Tu^2 A7 n°1	RK 13+ A 12	LC Ha Tu SV 40
1	Ser H 1	+	+	-
	Ser H 2	+	-	-
	Ser H 3	d	-	-
2	Ser H 1	+	-	-
	Ser H 2	+	-	-
3	Ser H 1	+	d	-
4	Ser H 1	d	d	-
	Ser H 2	+	+	-
5	Ser H 1	Précipité non spécifique	+	-
6	Ser H 1	+	+	-
	Ser H 2	-	-	-
7	Ser H 1	Précipité non spécifique		
	Ser H 2			
8	Ser H 1	+	+	-
9	Ser H 1	+	-	-
	Ser H 2	+	-	-
	Ser H 3	-	-	-
	Ser H 4	+	d	-
	Ser H 5	-	-	-
	Ser H 6	-	+	-
10	Ser H 1	+	-	-
	Ser H 2	+	+	-
11	Ser H 1	+	+	-

TABLEAU n°IV : (suite)

N° de la souche virale et n° du hamster porteur d'une tumeur primaire correspondante		LC Ha Tu^2 A7 n°1	RK 13+ A 12	LC Ha Tu SV 40
12	Ser H 1	+	-	-
	Ser H 2	Précipité non spécifique		
	Ser H 3	+	+	-
13	Ser H 1	+	Non fait	-
16	Ser H 1	+	+	-
	Ser H 2	+	-	-
	Ser H 3	+	+	-
17	Ser H 1	+	+	-
18	Ser H 1	-	-	-
20	Ser H 1	+	d	-
21	Ser H 1	d	-	-
23	Ser H 1	-	-	-
	Ser H 2	+	+	-
24	Ser H 1	+	+	-
	Ser H 2	d	-	-
25	Ser H 1	+	+	-
	Ser H 2	+	+	-
	Ser H 3	+	+	-
	Ser H 4	d	-	-
26	Ser H 1	d	-	-
29	Ser H 1	+	+	-
30	Ser H 1	+	-	-
32	Ser H 1	+	-	-

Tableau n°V

N° de la souche virale et du hamster porteur de tumeur secondaire correspondante	LC Ha Tu^2 A 7 N° 1	LC RK 13 + A 12	LC Ha SV 40	Tu IHA
1 Ser Ha 1	+	+	-	-
Ser Ha 2	+	+	-	-
Ser Ha 3	+	+	-	-
3 Ser Ha 1	+	+	-	-
Ser Ha 2	+	+	-	-
Ser Ha 3	+	+	-	-
5 Ser Ha 1	+	+	-	-
Ser Ha 2	+	+	-	-
Ser Ha 3	+	+	-	-
9 Ser Ha 1	+	+	-	-
Ser Ha 2	+	+	-	-
Ser Ha 3	+	d	-	-
11 Ser Ha 1	-	-	-	-
Ser Ha 2	-	-	-	-
Ser Ha 3	-	-	-	-
13 Ser Ha 1	+	-	-	-
Ser Ha 2	+	+	-	-
Ser Ha 3	+	-	-	-
20 Ser Ha 1	+	+	-	-
Ser Ha 2	+	+	-	-
Ser Ha 3	+	+	-	-

DISCUSSION DES RESULTATS

-:-

A - L'authenticité des souches virales repose sur un typage par inhibition de l'hémagglutination par sérum de Lapin. Il est bien connu que l'antisérum 7 est susceptible d'inhiber l'hémagglutination de l'Adénovirus 11 mais à un titre moindre que dans la réaction homologue. Il a été vérifié que le sérum anti 7 utilisé à l'Hôpital Trousseau à la dilution de 1/50 n'inhibe pas l'hémagglutination par 4 unités hémagglutinantes d'Adénovirus 11.

L'absence d'antigène T SV 40 élimine l'existence d'hybride. D'ailleurs, les souches étaient fraîchement isolées chez l'homme et, en ce qui concerne les souches parisiennes, jamais passées sur rein de Singe. Le SV 40 n'a jamais été manipulé au laboratoire de l'Hôpital Trousseau.

B - La responsabilité de l'Adénovirus dans les tumeurs obtenues repose sur leur date d'apparition, leur aspect macroscopique, la grande rareté des tumeurs spontanées du hamster. Les tumeurs régressives qui n'ont pu être examinées macroscopiquement ont été éliminées du calcul du pourcentage des tumeurs obtenues et les souches virales avec tumeur régressive ont toutes donné aussi des tumeurs d'aspect typique.

C - Le chiffre de 21 p.cent de tumeurs chez les animaux survivant au sevrage est en accord avec les résultats habituellement obtenus de même que la chronologie dans l'apparition des tumeurs.

D - L'absence d'anticorps anti T 7 chez certains hamsters porteurs de tumeur n'est pas un argument contre la responsabilité de l'Adénovirus (GILDEN, R.V. 1967) et inversement 50 p.cent des hamsters inoculés à la naissance par l'Adénovirus 12 développent des anticorps anti T 12 en l'absence de toute tumeur (YOHN, D.S. 167 II).

La positivité plus fréquente des sérums porteurs de tumeurs secondaires dans cette étude peut s'expliquer par le fait qu'on a laissé évoluer les tumeurs secondaires jusqu'au stade prémortem alors que les tumeurs primaires étaient souvent extraites plus tôt en vue d'une transplantation viable.

L'absence d'anticorps anti T chez les 3 hamsters porteurs de tumeur secondaire induite par la souche n°11, contrastant avec la positivité du hamster porteur de la tumeur primaire n'a pas reçu l'explication satisfaisante.

E - L'immunofluorescence a retrouvé l'existence d'une communauté antigénique au moins partielle entre antigène T 7 et T 12.

F - Enfin l'absence d'anticorps inhibant l'hémagglutination au 1/10 dans les sérums de hamsters porteurs de tumeur secondaire plaide contre la persistance du virion dans les tumeurs.

Au total ces souches françaises d'Adénovirus

type 7 de par leur pouvoir oncogène expérimental faible et retardé et de par leur fréquence d'isolement sont comme les souches déjà étudiées susceptibles de jouer un rôle dans l'oncogénèse humaine.

Il faut reconnaître que jusqu'à présent il n'existe aucun argument formel en faveur d'un tel rôle des adénovirus chez l'homme. Toute expérimentation chez le nouveau-né "homologue" étant exclue.

La recherche d'antigène T spécifique des adénovirus 12, 18 et 7, du SV 40, du virus du sarcome de Rous dans les tissus cancéreux humains n'a donné aucun résultat probant. (CLARSON V.M. 1967). Il en est de même de la recherche d'anticorps anti T chez les cancéreux. (Van HOUSIER, G.L. 1968 - MALMGREEN R.A. 1968 - MASUDA T., 1968). D'ailleurs l'apparition en dehors de toute tumeur reconnue d'anticorps anti T, tant chez les hamsters nouveaunés (YOHN, déjà cité) que chez les humains au décours d'infections aiguës banales (LEWIS, A. 1967) laisse prévoir de grandes difficultés d'interprétation dans les recherches d'anticorps anti T chez les sujets cancéreux.

-:-

CONCLUSIONS

-:-

Sur 32 souches d'Adénovirus humains type 7 isolées en France, 26 ont fait preuve d'un pouvoir oncogène expérimental pour le hamster nouveau-né.

Le nombre d'animaux inoculés par souche ne permet pas de conclure à l'absence de pouvoir oncogène pour les 6 souches n'ayant pas donné de tumeur. Pour les mêmes raisons il n'a pas été possible d'établir un taux individuel d'obtention de tumeur pour chaque souche virale.

Mais en cumulant les résultats obtenus avec 31 souches, on peut conclure à un taux d'obtention de tumeur et à un délai d'apparition des tumeurs en accord avec les études antérieures portant sur quelques souches dont la souche prototype.

Cette étude confirme l'existence d'une communauté antigénique au moins partielle entre les antigènes tumoraux des Adénovirus type 12 et type 7.

-:-

Vu :
Le Président :
Signé : P. TOURNIER

Vu :
Le Doyen :
Signé : G. BROUET

Vu et Permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris :
Signé : Jean ROCHE

BIBLIOGRAPHIE
-:-

1 - ANGELLA (J.J.) and CONNOR (J.D.)
Néonatal infections caused by adenovirus type 7.
J. of Pediatrics - April 68, vol. 72, n° 4, 474-478.

2 - ANDREONI (O.)
On two fatal cases of lung disease correlated with Adenovirus type 7.
Minerva Pediat. 17, 1504-9, 29 sept.65.

3 - BAUM (S.G.), REICH (P.R.), HYBNER (C.J.), ROWE (W.P.), WEISSMAN (S.M.)
Biophysical evidence for linkage of Adenovirus and SV 40 DNA in AV 7 - SV 40 hybrid particles.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 1966 - 56 - n° 5 - 1509-15.

4 - BEBE (M.), CHANY (C.), HABIB (E.C.), MOLKHOU (P.), ROBINEAU (J.), SOULAS (B.) et coll.
Epidémie familiale de maladie à Adénovirus type 7 avec manifestations encéphalitiques et sanguines.
Arch. Fr. Péd. 1964 - 21 - n° 1 - 87-100.

5 - BENYESH-MELNICK (M.), ROSENBERG (H.S.)
The isolation of Adenovirus type 7 from a fatal case of pneumonia and dissiminated desease.
J. Pediat. USA (1964), 64, n° 1, 83-7.

6 - BERGE (T.O.), ENGLAND (B.), MOURIS (C.), SHUEY (H.E.), and LENNETTE
Etiology of acuted respiratory disease service personnel at Ford. Grd. California.
Ann. J. HYG. 1955 62 28?-294.

7 - BERMAN (L.D.)
On the nature of transplantation immunity in the adenovirus tumor system.
The J. of Exp. Med. 67 vol.125, n°6, 983-1000.

8 - BERNHARD (W.), TOURNIER (P.)
Modifications persistantes des mitochondries dans les cellules tumorales de hamster transformées par l'Adénovirus type 7.
Internat. J. Canc. 1966, 1, n°1, 61-80.

9 - BOEYE (A.) et al.
SV 40 Adénovirus hybrids : presence of two genotypes and the requirement of their complementation for viral replication.
Virology, 28, 56, 70 janvier 1966.

10 - BRAILOWSKY (C.), WICKER (R.), SUAREZ (H.) CASSIGENA (R.)
Transformation in vitro de cellules de Hamster chinois par l'Adénovirus 7 - Etude cytogénétique.
Int. J. Cancer 2, 133-42, 1967.

11 - BRAILOWSKY (C.), CHANY (C.), TOURNIER (P.)
Extraction de stimulon de cellules transformées par l'Adénovirus type 12 ou par le SV 40.
R.C. Acad. Sc. Paris 266, 2133-35 13 mai 68.

12 - BRICOUT (F.), HURAUX (J.M.), REGNARD (J.)
Enquête concernant la fréquence des infections humaines à Adénovirus oncogènes pour l'animal.
Presse Médicale 76 n°2 59-62 13.1.68.

13 - BUTEL (J.S.)
Characterization of the strain of Adenovirus type 7 carrying the defective monkey all adaptating component (M.A.C.)
J. of Virology oct.67, vol.n°5, 876-882.

14 - BUTEL (J.S.), RAPP (F.), MELNICK (J.L.) RUBIN (B.A.)
Replication of Adenovirus type 7 in monkey alls. A new determinant and its transfer to Adenovirus type 2.
Sc. USA 1966, 154, n°3749, 671-3.

15 - CASSINGENA (R.), TOURNIER (P.)
Interaction Adénovirus type 12 - Cellules du mesocricetus auratus - I - Etude chromosomique.
Annales I.P. Tome 108 - 277-297.

16 - CASSINGENA (R.), WICKER (R.)
Interaction Adénovirus type 12 ; cellules du mesocricetus auratus - II - Délection d'un chromosome sexuel.
Ann. I.P. 1966 - 110 - n°5, 655-74.

17 - CHANY (G.), LEPINE (P.), LELONG (M.), LETANVINH, SATGE (P.), VIRAT (J.)
Severe and fatal pneumonia in infants and young children associated with adenovirus infections.
Ann. J. Hyg. 67, 367, 1958.

18 - DOERFLER (W.)
The fats of the DNA of Adenovirus type 12 in baby hamster Kidney cells.
Proc. Nat. Ac. Sci. 60 n°2, 636-643 June 68.

19 - EASTON (J.M.), HIATT (C.W.)
Possible incorporation of SV 40 genome within capsid protein of adenovirus type 4.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 1965, 344, n°4, 1100-4.

20 - ENJALBERT (L.), DIDIER (J.), LARENG (MB.), LAPDRINE (L.)
Les adénovirus - Etude de 17 souches isolées à Toulouse.
Ann. I.P. Paris 1960 - 99 n°4, 608-17.

21 - FJELDE (A.), TRENTIN (J.J.), BRYAN (E.)
The chromosomes of tumor induced in mice by human adenovirus type 12.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. USA 1964, 116, n°4, 111-5.

22 - FREEMAN (A.H), HOLLINGER (S.), PRICE (P.J) CALISHER (C.)
The effect of calcium on cell lines derived from Adenovirus type 12 induced hamster tumors.
Exp. Cell. Res. USA 1964, 39, n°1 259-64.

23 - FREEMAN (A.E.), BLACK (P.H.), VANDERPOOL (E.A.), HENRY (P.H.), AUSTIN (J.B.), HUEBNER (R.)
Transformation of primary rat embryocells by adenovirus type 2.
Proc. Nat. Ac. Sci. vol.58 n°3, 1205-1212 - sept.67.

24 - FREEMAN (A.E.), BLACK (P.H), WOLFORD (R.) HUEBNER (R.J.)
Adenovirus type 12, rat embryo Transformation system.
J. of Virl. Ap.67 vol.1 n°2, 362-67.

25 - FUJINAGA (K.), GREEN (M.)
The mechanism of viral carcinogenosis by DNA mammalian viruses I.Viral specific RNA in polyribosomes of adenovirus tumor and transformed cells.
Proc. Nat. Acad. Sc. vol.57 n°3 - 806-12.

26 - FUJINAGA (K.), GREEN (M.)
Mechanism of viral carcinogenesis by DNA mammalian viruses II -nViral specific RNA in tumor cells induced by weakly oncogenic human adenovirus.
Proc. Nat. Acad. Sci. vol.57, n°3, 806-12.

27 - FUJINAGA (K.), GREEN (M.)
Mechanism of viral carcinogenesis by DNA mammalian viruses IV ; Related virus specific RNA a in tumor cells induced by highly oncogenic adenovirus types 12 18 et 31.
J. of Vir. juin 1967, vol.1, n°3 576-582.

28 - FUJINAGA (K.), GREEN (M.)
Mechanism of viral carcinogenesis by DNA mammalian viruses V. Properties of purified viral specific RNA from human adenovirus induced tumor cells.

29 - GABRIELSON (M.O), JOSEPH (C.), HSIUNG (G.D.)
Encephalitis associated with adenovirus type 7 occuring in a out break.
J. of Ped. janvier 66 vol.68 n°1 142-4.

30 - GILDEN (R.V.) and all.
Production high-titer antibody in serum and ascitic fluid of hamster for a variety of virus induced tumor antigens.
Appl. Microb. vol.15 n°3, 657-660, 1967.

31 - GILDEN (R.V.), KERN (J.), FREEMAN (A.E.), MARTIN (C.G.), MAC ALLISTER (R.C), TURNER (H.C.), HUEBNER (R.J.)
T. and tumor antigens of adenovirus groupe C infected and transformed cells.
Nature. vol.219, n°5133, 517-18.

32 - GIRARDI (A.J.), HILLEMAN (M.R.), ZWICKEY (R.E.)
Tests in hamsters for oncogenic quality of ordinary viruses including adenovirus type 7.
Proc. Soc. Exp. Bio. and Med. 1964, vol. 115, 1141.

33 - GREEN (M.), PINA (M.)
Biochemical studies on adenovirus multiplication IV. Isolation, purification and chemical analysis.
Virology 20, 199-207, 1963.

34 - HAYASHI (K.) and RUSSELL (W.C.)
A study of develpment of adenovirus antigens by the immunofluorescent technique.
Virology 34 470-480 1968.

35 - HELLSTROM (I.), SJÖGREN (H.O.)
In vitro demonstration of humoral and cell. bounds immunity against common specific transplantation antigens (s) of adenovirus type 12 induced mouse and hamster tumor.
J. of Ex. Med. 1 VI 67 -125: 1105-8.

36 - HOGGAN (M.D.), ROWE (W.P.), BLACK (P.H.), HUEBNER (R.J.)
Product of tumor specific antigens by oncogenic virusis (SV 40 and adenovirus type 12) during acute cytolytic infections.
Proc. Nat Acad. Sci. 53 12-19.

37 - HUEBNER (RJT)
1959, Public Health Report.

38 - HUEBNER (R.J.), LANE (W.T.), WELCH (A.D.), CALABRESSI (P.), MAC COLLUM (R.W.)
Inhibition by 5 iodo-desoxyuridine of oncogenic effects of adenovirus type 12 in hamsters.
Science USA (1963) 142, n°3591 488-90.

39 - HUEBNER (R.J.), ROWE (W.P.), LANE (W.T.)
Proc. Nat. Acad. Sci. déc. 1962, vol. 48 n°13 2051-58.

40 - HUEBNER (R.J.), CHANOCK (R.M.), RUBIN (B.A) CASEY (M.J.)
Induction by adenovirus type 7 of tumors in hamsters having the antigenic characteristics of SV 40 virus.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 1964, vol. 52, 1353.

41 - HUEBNER (R.J.), CASEY (M.J.), CHANOCK (R.M) SCHELL (K.)
Tumors induced in hamsters by a strain of adenovirus type 3 : sharing of tumors antigens and "neoantigens" with those produced by adenovirus type 7 tumors.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 1965, vol. 54, n°2, 381-8.

42 - ISRAEL (M.S.)
The viral flore of enlarged tousils and adenoids.
J. of Pathol. and Bact. 84 n°1 169-176, 1962.

43 - KALNINS (V.I), STICH (H.F.), GREGORY (C.), YOHN (D.S)
Localization of tumor antigens in adenovirus type 12 induced tumor cells and in adenovirus type 12 infected human an hamster cells by ferritin-labeled antibodies.
Cancer Research 27 Part 1 1874-86 - (oct. 1967).

44 - KAMIYA (S.), KAJI (M.), TATEWAKI (E.), SHINGU (K.), TERAWAKI (T.)
Isolation of adenovirus from children with acute respiratory symptoms and infantile diarrhea.

45 - KAPSENBERG (J.G.)
Een epidemie by kinderen, veroorzaatit door adenovirus type 7 - Verchijuselen by patienten, by wie nitscheindung van dit virusis vastgesteld.
Neederl. T. Genneeskde (1962) 106, n°2. 69-70.

46 - KIRSCHENSTEIN (R.L.), RABSON (A.S.), PETERS (M.A.)
Oncogenic activity of adenovirus 12 in the thymectonized BALB/c and C 3 H/ H e N mice.
Proc. Soc. Exp. Bio. Med. USA 1964 117, n°1, 198-200.

47 - Sister LACY - GREEN (M.)
Adenovirus multiplication : genetic relatedness of tumorigenic human adenovirus types 7, 12 et 18.
Science, Doc.3, 1965, vol.150, n°3701 1296-1298.

48 - LARSON (V.M.), GIRARDI (A.J), HILLEMAN (M.R.), ZWICKEY (R.E.)
Studies of oncogenicity of adenovirus type 7 virusis in hamsters.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. USA 1965, 118, n°1, 15-25.

49 - LARSON (V.M.), GOSNELL (P.A.), HILLEMAN (M.R.)
Complent fixation reaction of human neoplastic tissu with sera from tumor bearing virus induced tumors.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1967, vol. 125, 525-534.

50 - LEDUC (E.H), BERNHARD (W.), TOURNIER (P.)
Cyclic appearence of a typical mitochondrie containing DNA fibers in cultures of an adenovirus type 12 induced tumors.
Expr. Res. USA 1966 42 n°3, 597-616.

51 - LEVINTHAL (J.O), AHMAD-ZADEH (C.), Van HOOSIER (G.) Jr and TRENTIN (J.J.)
Immunofluorescence of human adenovirus type 12 in various cell types. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1966, vol.121, 405-414.

52 - LEVINTHAL (J.D.), PETERSEN (W.)
In vitro transformation and immuno-fluorescence with human adenovirus type 12 in rat and rabbit Kidney cells.
Feder. Proc. USA 1965 24 n°2 part.1 174.

53 - LEWIS (G.C.), ROWE (W.P.),DELLANGELO (R.J) BRODSKY (I.)
Investigation of viral etiology for cervicel cancer.
Ann. J. Obst. Gynec. 93, 659-668, 1965.

54 - LEWIS (A.), WIESE (W.H), and ROWE (W.P)
The presence of antibodies in serum to early (T) adenovirus antigens.
Proc. Nat. Acad. Sc. n°3, vol.57, 622-629, 1967.

55 - LEWIS (A.M.) Jr PRIGGE (K.O) ROWE (W.P)
Studies of adenovirus - SV 40 hybrid virusis IV - An adenovirus type 12 - Strain carrying the infections SV 40 genome.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 1966 55 n°3526-31.

56 - LORANS (G.), TOURNIER (P.)
Un facteur de croissance nécessaire à la culture in vitro des cellules destumeurs induites chez le hamster par l'adénovirus type 12.
C.R. Acad. Sci. Fr. 1964, 258, 4 - 1386-8.

57 - Mac ALLISTER (R.M.), LANDING (B.H), GOODHEART (C.R.)
Isolation of adenovirus from neoplastic and non neoplastic tissues of children.
Lab. Invest. USA 1964, 13, n°8 - 894-901.

58 - Mac BRIDE (W.D.), WIENER (A.)
In vitro transformation of hamster kidney cells by human adenovirus type 12. Proc. Soc. Exp. Biol.Med. USA 1964, n°4, 870-4.

59 - Mac KINNON (E.), KALNINS (V.I) STICH (M.F) YOHN (D.S.)
Viruses and mammalian chromosomes VI Comparative Karyolytic and immuno-fluorescent studies on syrian hamster and human amnion cells infected with human adenovirus type 12.
Canc. Res. USA 1966 26 n°4 part 1 612-8.

60 - MALLET (R.), RIBIERE (M.),BONNENFANT (F.) LABRUNE (B.), REYROLE (L.)
Les pneumopathies graves à adénovirus.
Arch. Fr. Ped. 1966 -23 - n°9 1657-73.

61 - MALMGREEN (R.A.), RABSON (A.S.) and CARNEY (P.G.)
Survey of human cancer patient sera for adenovirus T antibody by immuno-fluorescence.
Int. J. Cancer 3 33-34 1968.

62 - MARTI (A.), CONNOR (J.D.), SIGEL (M.M)
Recovery of infections virus from adenovirus type 12 tumor cells.
J. of the NCI vol.40, n°2, fév.1968, 243-247.

63 - MOGABGAB (W.J.)
Mycoplasma pneumoniae and adenovirus respiratory illnesses in military and university personnel 1959-1966.
Ann. Rev. of Resp. Disease vol.97 1968, 345-350.

64 - NAEGELE (R.F.) and RAPP (F.)
Enhancement of the replication of human adenovirus in simian cells by simian adenovirus SV 15.
J. of Vir. Ang. 67 C/Vol.14 n°4 838-40.

65 - NAHMIAS (A.J), GRIFFTIH (D.), SNITZER (J.)
Fatal Pneumonia associated with adenovirus type 7.
Ann. J. Diseases of Children Jul.67, vol.114 36-41.

66 - PEREIRA (M.S.), PEREIRA (H.G.), CLARKE (SKR)
Human adenovirus type 31 - A new serotyp with oncogenic properties.
Lancet 6 B. 1965 n°7375 - 21-3.

67 - PEREIRA (M.S.), Mac CALLUM (F.O)
Infection with adenovirus type 12.
Lancet G.B. 25.1.64 198-9.

68 - PEREIRA (H.G.), ALLISON (A.C.) NIVEN (JSF)
Fatal infection of newborn hamster by an adenovirus of human origine.
Nature 196 - 244-45 1962.

69 - PEREIRA (H.G.), KELLY (B.)
Latent infection of rabbits by adenovirus type 5.
Nature 180 615-616 - 1957.

70 - PINA (M.), GREEN (M.)
Proc. Nat. Acad. Sci. Wash. 54 (547) 1965.

71 - OLSON (L.C.), MILLER (G.), HANSHAW (J.B.)
Acute infections lymphocytosis presenting as a pertussis-like illness : its association with adenovirus type 12.
Lancet 25.1.64. 200-1.

72 - RABSON (A.S.), KIRSCHTEIN (R.L.) PAIL (F.J.)
Tumors produced by adenovirus type 12 in mastomys and mice.
J.Nat.Canc.Inst.USA (1964) vol.32, n°1, 77-87.

73 - RAPP (F.), FELDMAN (L.A), MANDEL (M.)
DNA synthesis in simian cells infected by adenovirus.
J. Bact. 1966, vol.92, 931.

74 - RAPP (F.), JERKORFSKY (M.), VANDERLICE (D.)
Characterization of defectiveness of human adenovirus in green monkey Kidney cells.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1967, vol.126 782-86.

75 - RAPP (F.), JERKOFSKY (M.), MELNICK (J.L)
Variation in the oncogenic potential of human adenovirus carrying a defective SV 40 genome (Para).
J. of Exp. Med. Jan. 1.68 vol.127 n°1, 77-90.

76 - RAPP (F.), BUTEL (J.S.), MELNICK (J.L)
SV 40 - adenovirus hybrid population: transfer of SV 40 determinants from one type of adenovirus to another.
Proc. Nat. Aced. Sci. USA (1965) vol.54, n°3, 717-24.

77 - RAPP (F.), MELNICK (J.L.)
Papovavirus SV 40, adenovirus and their hybrids : transformation complementation and transcapsidation.
Progr. Med. Virol. Switz. 1966 8, 349-99.

78 - RIGGS (J.L.), TAKEMORI (M.), LENNETTE (E.H)
Detection of adenovirus type 12 neoantigens (s) in a continuous human amnion cell line by immunofluorescence.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 120 832-7 déc. 65.

79 - ROSEN (L.)
Hemagglutination by adenovirus.
Virology 1958, 5, 374.

80 - ROSEN (L.)
Hemagglutination - inhibition technic for typing adenoviruses.
Ann. J. Hyg. 71 120-128 (1960).

81 - ROWE (W.P.), BAUM (S.G.), PUGH (W.E.), HOGGAN (M.D.)
Studies of adenovirus - SV 40 hybrid viruses - I Assay system and further evidence for hybridization.
J. Exp. Med. USA 1965 122 n°5 - 943-54.

82 - ROWE (W.P.), BAUM (S.G.)
Studies of adenovirus SV 40 hybrid viruses. II Asfectiveness of the hybrids particles.
J. Exp. Med. USA 1965, 122 n°5 955-66.

83 - ROWE (W.P.)
Studies of adenovirus SV 40 hybrid viruses III Transfer of SV 40 gene between adenovirus typs.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 1965, 54, n°3, 711-7.

84 - ROWE (W.P.), PUGH (W.E.)
Studies of adenovirus - SV 40 hybrid viruses V - Evidence for linkag between adenovirus and SV 40 genetic material.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 55 n°5 1125-32.

85 - ROWE (W.P.), BAUM (S.G.)
Evidence for a possible genetic hybrid between adenovirus type 7 and SV 40 viruses.
Proc.Nat.Acad.Sci.USA 1964 52- 1340.

86 - SABIN (A.B), KOCH (M.A.)
Evidence of continuous transmission of non infections SV 40 viral genome in most or all SV 40 hamster tumor cells.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 49, 304-311, 1963.

87 - SAMAILLE (J.), WATRE (P.), BLIN (C.)
Induction de tumeurs par l'adénovirus type 12 chez le hamster adulte thymectomisé à la naissance.
C.R. Acad. Sc. Paris T 265 299-301, 17.7.67.

88 - SAMAILLE (J.), DEFRANCE (J.), BLIN (C.), OLLIVIER (M.)
Etude des anticorps inhibiteurs de l'hémagglutination chez les hamsters porteurs de tumeurs primaires et greffées induites par l'adénovirus type 12. C.R. Acad. Sc. Paris T.264, 1664-1667 20.3.67.

89 - SCHILDG (C.), POTTER (C.W.), OXFORD (J.S)
Inhibition of tumor formation with adenovirus type 12 tumorcells in hamsters immunized with various adenoviruses.
Nature 213, 519 - 1967.

90 - SJOGREN (H.O), MINOWADA (S.),ANKERST (J.)
Specifics transplantation antigens of mouse sarcomas induced by adenovirus type 12.
J. Exp. Med. 125 689-701 ap.67.

91 - SMITH (K.O), MELNICK (J.L)
Adenovirus like particles from cancer induced by adenovirus type 12 but free of infectious virus.
Science USA 1964, 145, n°3637 1190-2.

92 - SOHIER (R.) et al.
Current knowledge of adenoviruses.
Prog. Med. Virology 8, 1967, Karger, Basel.

93 - STERNER (G.), GERZEN (P.), OHLSON (M.) SVARTZ-MALMBERG (G.)
Acute respiratory illness and gastro enteritis in association with adenovirus type 7 infections.
Acta Ped. Suède 1961 50 n°5 457-68.

94 - STEVENS (D.A.) and all.
Standardization and certification of reference antigens and antisera for 30 human adenovirus serotypes.
Ann. J. Epidem. vol. 86 n°3 617-633.

95 - STICH (H.G.), VANHOOSIER (G.L), TRENTIN (JJ)
Viruses and mammalian chromosomes.
Chromosome aberration by human adenovirus type 12.
Exp. Cell. Res. USA 1964 34 n°2 100-3.

96 - STICH (H.F.), YOHN (D.S.)
Virus and mammalian chromosomes - Chromosome aberrations in tumors of syrian hamsters induced by adenovirus type 12.
J. Nat. Cancer Inst. USA 1965 35 n°4 603-15.

97 - SULTANIAN (I.V.), FREEMAN (G.)
Enhanced growth of human embryogenic cells infected with adenovirus type 12.
Sci. Nov. 4 - 1966 C/Vol. 154 n°3749 665-667.

98 - TRENTIN (J.J), YABE (Y.), TAYLOR (C.)
The quest for human cancer viruses.
Science 1962, vol.137, 835-841.

99 - TRUFFELLI (G.T.), TIMM (E.A.), BEARDMORE (W.B.) Mac LEAN (I.W) Jr
Inactivation of adenovirus and simian virus 40 Tumorigenecity in hamsters by vaccine - Processing methods.
Applied Microbio May 67 vol.15 n°3 516-27.

100 - VANDEPUTTE (M.), SAMAILLE (J.), DE SOMER (P.), WATTRE (P.)
Induction de tumeurs chez le Rat par injection de sérum antithymocytaire et de fibroblastes transformés in vitro par l'adénovirus 2.
C.R. Acad. Sc. Paris t.267, p.1071-73.

101 - Van HOOSIER (G.L), TRENTIN -J.J)
Reactivity of human sera with adenovirus type 12 Hamster tumor antigens in the complement fixing test.
Jor. of NCI 40, 249-253, 1968.

102 - YABE (Y.), SAMPER (L.), BRYAN (E.) TAYLOR (G.), TRENTIN (J.J)
Oncogenic effect of human adenovirus type 12 in mice.
Science USA 1964 143 n°3601 46-7.

103 - YOHN (D.S.), WEISS (L.), NEIDERS (M.E)
A comparaison of the distribution of tumors produced by intraveinous injection of adenovirus type 12 and adenovirus type 12 tumorcells.
Cancer Resear. 28 571-76 March 1968.

104 - YOHN (D.S), EUNK (C.A.), GRACE (J.T.) KALNINS (VI)
Sex related resistance in hamsters to adenovirus type 12 oncogenesis.
I. Influence of thymectomy at three weeks of age.
J.Nat. Cancer Inst. 35 617-624 1964.

105 - YOHN (D.S.), FUNK (C.A.), GRACE (J.T.)
Sex related resistance in hamsters to adenovirus type 12 oncogenesis. II. Influence of virus dose.
J. of Vir. décembre 1967, 1186-92.

-:-

TABLE DES MATIERES

I . INTRODUCTION 15

II . HISTORIQUE 17

III. MATERIEL ET METHODES 37

IV . RESULTATS 47

V . DISCUSSION DES RESULTATS 59

VI . CONCLUSIONS 63

VII. BIBLIOGRAPHIE 65